



Wolf, Greenfield & Sacks P.C.

English
Abstract for
JP 1-287022
B14

Client Reference #: N0260/9000

Research Report

Type of Search: Patent Record Retrieval

Date: July 12, 2000

Search Criteria: JP 1-287022

Databases Searched: Japio

Dates of Coverage:

Other Limitations:

Comments:

Prepared For: Roque El-Hayek

Prepared By: Kevin Clark

Wolf, Greenfield & Sacks, P.C. has carefully executed its search strategy to provide you with data that is as complete and accurate as possible. Since we rely upon the accuracy and completeness of information provided to our databases by a variety of government offices and other sources, we cannot warrant that data obtained is error-free or complete. As such, Wolf, Greenfield & Sacks, P.C. disclaims all warranties of merchantability or fitness for a particular purpose.

600 Atlantic Avenue, Boston, MA 02210 □ Tel (617) 720-3500 □ Fax (617) 720-2441

File 347:JAPIO Oct 1976-2000/Jan(UPDATED 000611)

(c) 2000 JPO & JAPIO

*File 347: Display front page images using format 19. See HELP NEWS 347 for more information

Set	Items	Description
---	-----	-----
?S PN=1287022		
S1	1	PN=1287022
?T 1/9/ALL		

1/9/1

DIALOG(R)File 347:JAPIO

(c) 2000 JPO & JAPIO. All rts. reserv.

02989422

AGENT FOR CONQUERING RESISTANCE TO CARCINOSTATIC AGENT

PUB. NO.: 01-287022 [J P 1287022 A]
PUBLISHED: November 17, 1989 (19891117)
INVENTOR(s): HIBINO HIDEHIKO
 MIYAMOTO YOICHI
 NAKACHI OSAMU
APPLICANT(s): NIPPON OIL & FATS CO LTD [000434] (A Japanese Company or
 Corporation), JP (Japan)
APPL. NO.: 63-113614 [JP 88113614]
FILED: May 12, 1988 (19880512)
INTL CLASS: [4] A61K-031/195; A61K-031/195; C07C-103/66
JAPIO CLASS: 14.4 (ORGANIC CHEMISTRY -- Medicine); 14.1 (ORGANIC CHEMISTRY
 -- Organic Compounds)
JAPIO KEYWORD: R051 (PHARMACEUTICALS -- Anti-cancer Agents)
JOURNAL: Section: C, Section No. 685, Vol. 14, No. 63, Pg. 71,
 February 06, 1990 (19900206)

ABSTRACT

PURPOSE: To obtain an agent for conquering the resistance to carcinostatic agents, free from side effect and exhibiting strong carcinostatic effect against resistant cancer, by using an N-docosahexaenoyl-glutamate alkali metal salt as an active component.

CONSTITUTION: The objective agent can be prepared by using N-docosahexaenoyl-glutamate alkali metal salt as an active component and converting the component into drug form by conventional process. It can be used in the form of soft capsule, hard capsule, iron agent, granule, injection or drip and is administered at a daily dose of 0.1-500mg/kg in terms of the N-docosahexaenoyl-glutamate alkali metal salt. The N-docosahexaenoyl-glutamate alkali metal salt can be produced e.g. by reacting an L-glutamic acid diester with docosahexaenoic acid dichloride and converting the resultant N-docosahexaenoyl-glutamic acid diester to an alkali metal salt with an alkali metal hydroxide.

?LOGOFF

12jul00 09:10:30 User217624 Session D6260.2
Sub account: N0260/9000 RE
\$1.88 0.172 DialUnits File347
\$1.50 1 Type(s) in Format 9
\$1.50 1 Types
\$3.38 Estimated cost File347
\$0.19 TELNET
\$3.57 Estimated cost this search
\$3.61 Estimated total session cost 0.334 DialUnits

Status: Signed Off. (1 minutes)

⑫ 公開特許公報(A) 平1-287022

⑬ Int. Cl. 4

A 61 K 31/195

識別記号

AGA
ADU

庁内整理番号

7330-4C

⑭ 公開 平成1年(1989)11月17日

// C 07 C 103/66

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全4頁)

⑮ 発明の名称 抗癌剤耐性克服剤

⑯ 特 願 昭63-113614

⑰ 出 願 昭63(1988)5月12日

⑱ 発 明 者 日 比 野 英 彦 東京都練馬区旭丘2丁目22番1号

⑲ 発 明 者 宮 本 洋 一 茨城県つくば市館野617番地

⑲ 発 明 者 仲 地 理 茨城県牛久市下根町1044-10番地

⑳ 出 願 人 日本油脂株式会社 東京都千代田区有楽町1丁目10番1号

㉑ 代 理 人 弁理士 舟橋 榮子

明 細 書

1. 発明の名称

抗癌剤耐性克服剤

2. 特許請求の範囲

N-ドコサヘキサエノイル-グルタメート-アルカリ金属塩を有効成分とする抗癌剤耐性克服剤。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、低毒性で抗癌剤耐性克服能を有する抗癌剤耐性克服剤に関する。

(従来技術)

従来、抗癌剤として、アルキル化剤、代謝拮抗剤、抗生物質、植物性核分裂剤、免疫療法剤等が用いられている。このほとんどの抗癌剤は細胞内に取り込まれて、その効果を発揮する。しかし、この取り込まれた物質が効果を発揮できない、即ち細胞毒性を示せない癌細胞が存在する。これが抗癌剤に耐性をもつ癌細胞である。このような癌細胞は癌細胞集団に初めから存在する場合、例え

ば遺伝的に耐性あるいは低感受性の細胞と、治療中に癌細胞が耐性を獲得し耐性を示す場合もある。遺伝的な耐性も癌化学療法において重大な障害となっているが、特に獲得性の耐性は治療中に起き、かつ化学療法が失敗に至る大きな原因となることが知られている。

(発明が解決しようとする課題)

癌が診断された時点では、個体の多量の癌細胞が存在すると考えられている。そのためすべての癌細胞を死滅させ完全な治癒を得るためには強力な化学療法が必要である。しかし、短期間の抗癌剤投与でこれを遂行することは不可能であり、実際には段階的に癌細胞を減少させる治療が行われている。例えば白血病では、多剤併用療法で白血病細胞を減少させ、寛解到達後、寛解の維持と白血病細胞をさらに減少させるための抗癌剤投与が行われる。この多剤併用療法で寛解率が60~80%にも達しているが、この寛解導入に成功した症例においても、維持療法の経過中に白血病細胞が抗癌剤耐性となり、次第に増加して再発する現象が

みられる。このような抗癌剤耐性の問題をいかに克服していくかが重要な課題である。

現在、これらの抗癌剤耐性癌細胞の耐性克服には分化誘導物質による正常細胞への誘導が検討されているが、分化誘導耐性細胞の出現を生じ、またカルシウム拮抗薬による抗癌剤の細胞内蓄積も検討されているが、カルシウム拮抗薬の毒性の低下や血中濃度をいかに上げるか等、臨床上的問題が多数残っている。一方、癌細胞をさらに減少させるためのより強力な抗癌剤の投与は、正常造血細胞にも強い障害を与えるため、耐性細胞の5～10%を残存させる程度で抑えなくてはならない。このように、従来の抗癌剤の殆どは、細胞毒型の物質であり、重大な副作用を呈する危険性があり、また耐性癌を生じさせるので、低毒性で優れた抗癌剤耐性克服能を有する制癌剤の開発が強く望まれている。

本発明は、副作用がなく、また耐性癌に対してより強力な制癌効果を有する抗癌剤耐性克服剤を提供することを目的としている。

れ得る。

本発明における薬剤の投与量は、対象となる癌の種類又は症状等により異なるが有効成分であるN-ドコサヘキサエノイル-グルタメート-アルカリ金属塩の量が1日当たり0.1～500mg/kgの範囲で用いるのが望ましい。

本発明の薬剤は、ほとんど全ての耐性癌に効果を示し、例えば乳癌、皮膚癌、胃癌、大腸癌、前立腺癌、膀胱癌、卵巣癌、肺癌等の治療及び癌再発防止に有効に使用することができる。

本剤の臨床上的応用には、抗癌剤療法寛解期の維持と癌細胞の低下、抗癌剤との併用および化学療法剤や分化誘導物質による治療で発生する耐性癌の二次療法に使用できる。

(発明の効果)

本発明によって提供される抗癌剤耐性克服剤は、各種の抗癌剤療法においてその薬剤耐性ゆえに生存した癌細胞を効果的に死滅させることができる。

また、公知の抗癌剤と併用することにより強力な制癌効果を持続させることもでき、手術後の癌

(課題を解決するための手段)

本発明は、N-ドコサヘキサエノイル-グルタメート-アルカリ金属塩を有効成分とする抗癌剤耐性克服剤を提供するものである。

本発明に用いるN-ドコサヘキサエノイル-グルタメート-アルカリ金属塩としては、ナトリウム塩、カリウム塩、リチウム塩等がある。N-ドコサヘキサエノイル-グルタメート-アルカリ金属塩を得るには、例えばL-グルタミン酸ジエステルとドコサヘキサエン酸クロライドを反応させてN-ドコサヘキサエノイル-L-グルタミン酸ジエステルを得、ついで水酸化アルカリを作用させてアルカリ塩とすることにより得られる。

本発明の制癌剤耐性克服剤の有効成分であるN-ドコサヘキサエノイル-グルタメート-アルカリ金属塩は水溶性であり、経口及び非経口投与のいずれも使用可能であり、経口投与する場合は、軟・硬カプセル剤又は錠剤、顆粒剤として投与され、非経口投与する場合は、水溶性懸濁液としての皮下或いは静脈注射剤、点滴剤の形態で投与さ

細胞の増殖防止及び転移予防に著しい効果を発揮するが、副作用はほとんどない。

(実施例)

以下、実施例に基づき本発明を具体的に説明する。

(N-ドコサヘキサエノイル-L-グルタミン酸ジナトリウム塩の合成)

窒素雰囲気下で、L-グルタミン酸ジエチルエステル10.1g(0.05モル)を脱水ピリジン8mlおよび脱水アセトン40mlよりなる混合溶媒中50℃で加温溶解し、その後5℃以下に冷却しゆっくりと攪拌しながら、この溶液中にドコサヘキサエン酸クロライド20.8g(0.06モル)を徐々に滴下し、滴下終了後10分間攪拌を続けた。さらにこの混合物を50℃まで加温して30分間攪拌し続けた後に、室温まで放冷しその後、氷浴中に浸した500mlの水に流し込んだ。直ちに出現した析出沈澱物を濾別し、この沈澱物を50mlのn-ヘキサンによって3回抽出処理を行った。抽出液中の遊離の酸を除去するため、0.1規定炭酸ナトリウム溶液で中和

し、生成した塩を水で数回洗浄して遊離の酸や塩のないことを確認し、無水硫酸ナトリウム層を通して脱水した。n-ヘキサンを留去してから脱水メタノールを用いて再結晶を数回繰返し、N-ドコサヘキサエノイル- γ -グルタミン酸ジエチルエステルの微黄色の針状結晶24gを得た。

分析値 IR: ν_{max} (cm^{-1}) 1735、1650、

1190、1300

1050~940 cm^{-1} トランス酸 痕跡

UV: 233 $m\mu$ 共役ジエン酸 3%

268 $m\mu$ 共役トリエン酸 0%

このN-ドコサヘキサエノイル- γ -グルタミン酸ジエチルエステル20.5g (0.04モル)を無水エチルアルコール200 mlに溶解し、10%水酸化バリウム水溶液200 mlを加えて、水浴上、75℃で1時間加熱した。室温にまで放冷後、反応液を濾別し、この沈澱物を5℃以下に冷却した0.1モル塩酸溶液120 ml中にに入れてバリウム塩を分解後pH1に調整した。その後、10%水酸化ナトリウム水溶液を加えることによって沈澱したN-ドコサヘ

キサエノイル- γ -グルタミン酸塩の粗結晶を濾別し、n-ヘキサン中で数回、充分に攪拌洗浄を繰返し、凍結乾燥により脱水してN-ドコサヘキサエノイル- γ -グルタミン酸ジナトリウム塩の白色の粉末状結晶9.2gを得た。

分析値 IR: ν_{max} (cm^{-1}) 1300、1650、

1420、1550

1050~940 cm^{-1} トランス酸 痕跡

UV: 233 $m\mu$ 共役ジエン酸 4%

268 $m\mu$ 共役トリエン酸 0%

FAB-MS: (M+H)⁺ 502

キャピラリーカラムGC: カーボワックス 20M、50m、200℃。

加水分解して得たドコサヘキサエン酸をジアゾメタンでエステル化した。二重結合に基因するアーティファクトはなかった。また生成物は水に易溶性であった。

(N-ドコサヘキサエノイル- γ -グルタミン酸ジナトリウム塩の抗癌剤耐性克服能を確認した制癌性試験)

チャイニーズハムスター卵巣細胞の栄養要求変異株であるAuxB1細胞をコルヒチンで耐性化した細胞株を使用した。材料として用いた本細胞株は、CH⁺C5細胞と呼ばれ抗癌性抗生物質に対して多剤耐性である。アドリアマイシン(協和醗酵製)に対する耐性度は、1時間処理後、EC₅₀(50%有効濃度)で、AuxB1細胞は1.0 μ Mであるのに対してCH⁺C5細胞は720.0 μ Mと720倍の耐性度を持っていた。培養液は10%ウシ胎児血清含有の α -MEM(最小必須培養液:ヘーズルトン社)培地を使った。

10⁻⁴MのN-ドコサヘキサエノイル- γ -グルタミン酸ジナトリウム塩存在下でCH⁺C5細胞を培養後、0.1%トリブシンと0.05%エチレンジアミン四酢酸を溶解したリン酸塩緩衝食塩水:pH7.4(以下、PBSという)ではがした。培地に再懸濁させた後、直径3.5cmシャーレに500個の細胞をまき、N-ドコサヘキサエノイル- γ -グルタミン酸ジナトリウム塩の非存在下で1晩培養した。細胞は完全に底に接着していた。10⁻⁴Mに

なるようにN-ドコサヘキサエノイル- γ -グルタミン酸ジナトリウム塩のPBS溶液を加え、1時間培養した。さらに10⁻⁴MになるようにアドリアマイシンのPBS溶液を加え0~240分間、37℃でインキュベーションした。各培養時間後に薬物を含む培地を除き、PBS溶液で洗浄した。その後に薬物を含まない培地を2ml加え、5日間、37℃で培養した。形成されたコロニーを0.1%メチレンブルーで染色して、コロニー数を数えた。アドリアマイシンを加えた直後に培地の交換を行ったシャーレのコロニー数を100%コロニー形成として、各培養時間でのコロニー形成率を求めた。

なお、N-ドコサヘキサエノイル- γ -グルタミン酸ジナトリウム塩単独の細胞毒性はCH⁺C5細胞に対するEC₅₀で測定した。結果は1時間処理で8.0 \times 10⁻³M、24時間処理で7.5 \times 10⁻⁴Mで本試験法の用いた濃度では細胞毒性を示さなかった。

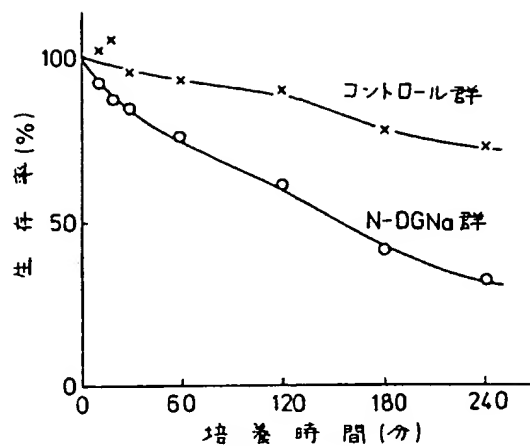
培養時間0分におけるコロニー数は、コントロール群(N-ドコサヘキサエノイル- γ -グルタ

ミン酸ジナトリウム塩の代わりに同容量のPBS溶液を加えたもの)で448個、N-ドコサヘキサエノイル-L-グルタミン酸ジナトリウム塩群で418個であった。 10^{-6} MのアドリアマイシンによるCH₂C5細胞のコロニー形成阻害の時間依存性を第1図に示した。

4. 図面の簡単な説明

第1図は、N-ドコサヘキサエノイル-L-グルタミン酸ジナトリウム塩(N-DGNa)群とコントロール群について、アドリアマイシンによる抗癌剤耐性癌細胞のコロニー形成阻害の時間依存性を示した図である。

第1図



特許出願人 日本油脂株式会社
代理人 弁理士 舟橋 榮子